Aus dem Laboratorium von Prof. R. Emmerich in München.

Über die Beschleunigung der Nitritproduktion in Kulturen von Choleravibrionen in Nitratbouillon durch deren vorhergehendes Wachstum auf verunreinigtem Boden.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfaßt und der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Mnoucha Chwilewizky
geb. Kviat.

Druck von R. Oldenbourg in München.
1912.

Aus dem Laboratorium von Prof. R. Emmerich in München.

Über die Beschleunigung der Nitritproduktion in Kulturen von Choleravibrionen in Nitratbouillon durch deren vorhergehendes Wachstum auf verunreinigtem Boden.

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde

in der

gesamten Medizin

verfaßt und der

Hohen medizinischen Fakultät

der

Kgl. Bayer. Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Mnoucha Chwilewizky
geb. Kviat.

ACAD.
LUGD.BAT.
BIBL.

Druck von R. Oldenbourg in München.
1912.

Angenommen von der hohen medizinischen Fakultät der Universität München.

Referent: Herr Professor Dr. Max v. Gruber.

Prof. Dr. Schneidewind und Dr. Heinze[1]) haben durch zahlreiche Untersuchungen konstatiert, »daß das oft stark reduzierte N-Bindungsvermögen bzw. die öfters, wohl aber nur scheinbar vollständig verloren gehende N-Bindungsfähigkeit von ‚Azotobakter' durch geeignete Passagekulturen in ursprünglicher Stärke regeneriert werden kann«.

Besonders günstig wirkten auf die Erhöhung des N-Bindungsvermögens: gewisse Erden, Humusstoffe, Amide und $(NH_4)_2\ SO_4$.

Auch Bredmann[2]) fand, »daß es bei Bac. asterosporus ebenso wie bei Bac. amylobacter gelingt, die im Laufe einer längeren Kultur verloren gegangene Fähigkeit in stickstofffreier Nährlösung zu wachsen und elementaren Stickstoff zu assimilieren, wieder zurückzugewinnen, wenn man die geschwächten Kulturen auf bei 150° C sterilisierte Gartenerde überträgt und 4 Wochen darin beläßt«.

---

1) Landwirtschaftl. Jahrbücher 1910. Ergänzungsbd. III. Arbeiten der Agrikult. chem. Versuchsstation Halle, S. 327 und 343.

2) Zentralbl. f. Bakt. II. Abt. 1909. Bd. 22, S. 80.

Endlich zeigte Krzemieniewski[1]), daß ein Zusatz von Humussäuren aus Erde — gleichgültig ob in Gestalt von freier Säure oder von K, Na oder Ca-Salzen — eine namhafte Steigerung der Stickstoffbindung durch den Azotobacter, der in Reinkultur auf gewöhnlichen, stickstofffreien Nährböden stets nur geringe Mengen von Stickstoff zu binden vermag, herbeiführt. Eingehende Versuche führten den Verfasser zu dem Schluß, »daß die Humusstoffe nicht als Stickstoffquelle, sondern auf irgendeine andere, vorläufig unbekannte Weise den Azotobacter zu einer üppigeren Entfaltung seiner Lebensfunktionen und zu einer energischeren Stickstoffbindung anregen. Wie sich dieser Einfluß tatsächlich äußert, darüber könnte man vorläufig nur hypothetisch urteilen«. Auch beim Granulobakter steigerte ein Zusatz von Humus die Fähigkeit der Stickstoffbindung.

Die Cholerabazillen haben bekanntlich die Fähigkeit, Nitrate zu Nitriten zu reduzieren, und nach Emmerich und Jusbaschian[2]) zeigen verschiedene Choleravibrionenstämme eine große Verschiedenheit in bezug auf die in einer bestimmten Zeit in nitrathaltigen Kulturflüssigkeiten gebildeten Nitritmengen, auch wenn alle anderen Umstände des Versuches die gleichen sind. Es gelingt auch Choleravibrionen durch bestimmte Einwirkungen, z. B. durch freie salpetrige Säure- oder durch Salzsäurelösungen so zu schädigen, daß sie in Kulturflüssigkeiten von bestimmtem Nitratgehalt nur noch sehr geringe Mengen von Nitrit bilden und die gesamte Menge der Nitrate selbst im Laufe von Wochen nicht mehr völlig in Nitrite überzuführen vermögen, während dieselbe von anderen Choleravibrionenstämmen schon innerhalb 48 Stunden zu Nitrit reduziert wird.

Es war mit Rücksicht auf die Beziehung der Cholera zum Boden von Interesse zu entscheiden, ob Passagekulturen der Choleravibrionen auf Böden eine ähnliche Wirkung auf die Wachstumsenergie und die Nitritproduktion abgeschwächter Choleravibrionen äußern, wie es durch Erdpassagekulturen für die Stick-

1) Zentralbl. f. Bakt. Abteil. II. Bd. 1909. XXIII, S. 46.
2) Archiv f. Hygiene 1912, Bd. 76, S. 12.

stoffbindung des Bac. amylobacter, Bac. asterosporus usw. konstatiert worden war.

Mit Rücksicht auf die epidemiologischen Fragen erschien es angezeigt, für die Passagekulturen einen Boden zu wählen, der nach unserem gegenwärtigen Wissen in bezug auf mechanische und chemische Beschaffenheit (Verunreinigung), sowie hinsichtlich des Feuchtigkeitsgrades günstige Entwicklungsbedingungen für Choleravibrionen bietet.

Auf Grund der folgenden Tabellen wählte ich zur Entnahme der Bodenproben die an der nördlichen Peripherie der Hauptstadt München gelegene Maxvorstadt II, in welcher bei der Choleraepidemie 1873/74 nicht nur die Cholerasterblichkeit im Verhältnis zur Zahl der Erkrankten, nach dem Hackenviertel am höchsten, sondern auch die Verunreinigung der Brunnenwässer (insbesondere nach dem Salpetersäuregehalt) und somit voraussichtlich auch die des Bodens am stärksten war und in welcher es noch Straßen gibt, die nicht kanalisiert sind, während letztere im Hackenviertel, welches nach der Tabelle eigentlich zuerst in Betracht kommt, nicht mehr zu finden sind.

Stadtbezirk	Erkrankungen an Cholera	Todesfälle an Cholera	Von 100 Erkrankten starben	Mittl. NO_3H-Gehalt des Brunnenwassers pro Liter in mg
1. Hackenviertel . . .	232	130	56,0	138 (nach Wagner 210)
2. Maxvorstadt II . .	126	69	54,8	143
3. Maxvorstadt I . . .	294	154	52,4	171
4. Maxvorstadt III . .	78	39	50,0	123
5. Isarvorstadt II . .	391	194	49,6	—
6. Isarvorstadt I . . .	172	84	48,8	43 (?)
7. Angerviertel	234	114	48,7	68
8. Kreuzviertel . . .	175	85	48,6	74
9. Graggenauerviertel .	338	163	48,2	65
10. Giesing	50	24	48,0	30
11. St. Annaviertel . .	308	142	46,3	28
12. Haidhausen	315	138	43,8	26
13. Ludwigsvorstadt . .	133	55	41,3	8—16 im größeren 46 im kleineren Teil
14. Vorstadt Au . . .	183	73	39,8	25

Nach eingehender Besichtigung der Straße wählte ich das Haus Nr. 3 der Fallmereyerstraße zur Entnahme des verunreinigten Bodens. Die erste Probeentnahme wurde am 28. Juli 1911, die zweite am 18. Dezember 1911 ausgeführt.

Die Fallmereyerstraße im jetzigen 26. Stadtbezirk zieht von der Hohenzollernstraße, mit der Belgradstraße parallel laufend, nach Riesenfeld, die Herzog-, Klemens-, Destouches- und Karl Theodorstraße kreuzend. Das Haus Nr. 3 ist eines jener kleinen einstöckigen Wohnhäuser, wie sie, mit Stall, Hof, kleinem Garten und einigen Schuppen versehen, an der Peripherie der Stadt viel zu finden waren und welche stets von kleinen Leuten bewohnt wurden, die entweder Ökonomie oder, wie im vorliegenden Falle, ein Fiakergeschäft o. dgl. betrieben.

Aus der nebenstehenden Skizze sind die für die Verunreinigung des Bodens in der Umgebung des Hauses maßgebenden Verhältnisse zu ersehen.

Der vordere Teil des Hofes ist bis zum Wagenstall hin nicht gepflastert. Die Bodenoberfläche besteht aus sandigem Kies, dessen schwarzgraue Farbe auf beträchtliche Verunreinigung schließen läßt. Der Boden hat die gleiche mechanische Beschaffenheit bis hinab zur Grundwasser führenden Flinzschichte.

Als ständige Verunreinigungsquellen des Bodens kommen in Betracht:

1. Eine durchlässige Abortgrube[1]) (wenn auch betoniert). Dieselbe ist 8 m tief und 8 qm groß (3.).

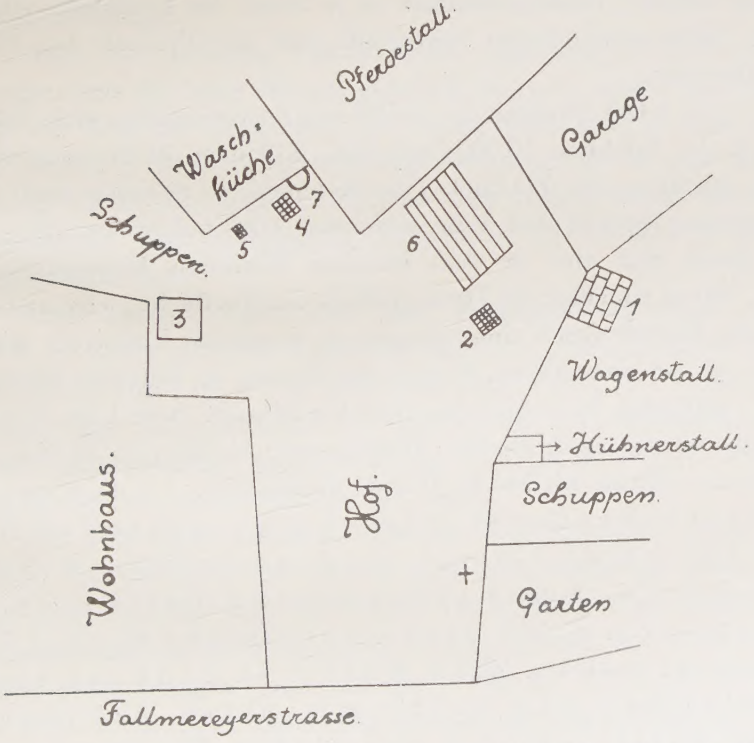
2. Eine Versitzgrube (4.) vor der Waschküche, wozu der frühere Pumpbrunnen verwendet wird. Diese Versitzgrube nimmt alles Schmutzwasser des Hauses (Wasch-, Putz- und Scheuerwasser), sowie die Küchenabwässer und diejenigen des Waschhauses auf.

3. Eine große Versitzgrube (1.) an der vorderen Wand des Wagenstalls, welche die von der Straße her und im Hof zusammenlaufenden erheblichen Mengen von Regenwasser der großen Dachflächen aufnimmt; außerdem aber auch viel Schmutzwasser,

1) Jede mit Mörtel oder Zement gemauerte Abortgrube wird mit der Zeit undicht, da schon freie Kohlensäure den kohlensauren Kalk des Mörtels als doppelkohlensauren Kalk auflöst usw.

welches im Hofe, im Pferdestall, in der Garage, im Wagenschuppen usw. anfällt und welches stark verunreinigt ist, weil immer Mist neben der Pferdemistgrube, sowie die Exkremente vieler Hühner und Tauben im Hofe auf der Bodenoberfläche herumliegen. Auch der flüssige Teil des Inhalts der Pferdemistgrube gelangt in das kleine Reservoir (2.) und aus diesem in die Hauptversitzgrube, mit der es durch ein Tonrohr kommuniziert. Dieses kleine Reservoir war bei unseren Besuchen stets bis etwa 20 bis 30 cm unter der oberen Umrandung (Bodenoberfläche) gefüllt und es konnte daraus geschlossen werden, daß auch die etwa 4 bis 5 m tiefe damit kommunizierende Hauptversitzgrube fast ganz mit Jauche gefüllt war.

Das Grundwasser steht in diesem Terrain in einer Tiefe von ca. 4,00 m.



1. Hauptversitzgrube. — 2. Reservoir für Hofschmutzwasser mit Überlauf in 1. — 3. Abortgrube. — 4. Versitzgrube, früher Pumpbrunnen. — 5. Kleines Schmutzwassersammel-Reservoir, kommunizierend mit 4. — 6. Pferdemistgrube. — 7. Leitungswasser.

Durch die durchlässige Abortgrube und die beiden großen Versitzgruben wurden hauptsächlich die tieferen Schichten des Bodens in etwa 3 m Tiefe bis zum Grundwasser fortgesetzt mit Jauche durchtränkt. Durch diese Art der Bodenverunreinigung von unten her werden in trockenen Zeiten ähnliche Grade und Arten der Verunreinigung der Bodenoberfläche durch den kapillar aufsteigenden Flüssigkeitsstrom geschaffen wie bei den Laboratoriumsexperimenten mit den Emmerichschen Bodenröhren. In trockenen Monaten, wie im Juli 1911 bis zum 20. August, entsteht in den Poren der Bodenoberfläche eine konzentrierte und qualitativ geeignete Nährlösung, in welcher sich Typhus- und Cholerabazillen zu vermehren vermögen. Eine Probe des in der Fallmereyerstraße Nr. 3 am 18. Dezember 1911 entnommenen Bodens wurde bei 400 Atm. ausgepreßt und durch Berkefeldfilter filtriert, Choleravibrionen in je 3 ccm des Preßsaftes eingesät, Gelatinezählplatten hergestellt und der Preßsaft bei 36° C aufbewahrt.

Aus 1 Öse Preßsaft (= 0,007 ccm) entwickelten sich sofort nach der Infektion 16 200 Chol.-Vibr.-Kolonien, 24 Stunden nach der Infektion 290 000 Chol.-Vibr.-Kolonien, 48 Stunden nach der Infektion 756 000 Chol.-Vibr.-Kolonien. Die Choleravibrionen vermehrten sich also in dem keimfrei filtrierten Bodenpreßsaft.

Wenn man über die 7 qcm große Bodenoberfläche im Emmerichschen Bodenversuch einen langsamen trockenen Luftstrom leitet, wie er bei windstillem Wetter im Freien in Betracht kommt, so verdunsten in 24 Stunden etwa 8 g Wasser. Von 1 qm Bodenfläche werden unter gleichen Bedingungen 11 429 g in 24 Stunden und in 1 Monat rd. 343 kg Wasser verdunsten. In den sechs unserer Probeentnahme vorausgehenden Monaten wurde also die Bodenschichte, welche sich unter 1 qm Hofoberfläche (Fallmereyerstraße Nr. 3) bis hinab zum Grundwasser befindet, mit ca. 2057 l Wasser in denkbar sorgfältigster und vollkommenster Art durch den aufsteigenden kapillaren Flüssigkeitsstrom ausgewaschen und so zweifellos alle

Substanzen, welche in dieser Bodenschichte löslich waren und im Laufe dieser Zeit löslich geworden sind, an die Bodenoberfläche geführt.

Diese Auslaugung des Bodens durch den Tag und Nacht ununterbrochen aufsteigenden, kapillaren Bodenwasserstrom verdient in landwirtschaftlicher und hygienischer Beziehung besondere Beachtung.

Nach diesen Darlegungen bot zur Zeit der Probeentnahme der Boden von der Hofoberfläche des Hauses Nr. 3 der Fallmereyerstraße sowohl in bezug auf seine mechanische Beschaffenheit (Porosität usw.) sowie hinsichtlich der Feuchtigkeit und der Art und Größe der Verunreinigung mit häuslichen und exkrementiellen Abwässern günstige Entwicklungsbedingungen für Choleravibrionen.

Auch die zeitlichen Faktoren, wie insbesondere die Regenmengen und das hohe Sättigungsdefizit der Luft, trugen dazu bei, daß zur Zeit der Entnahme der Bodenproben (am 28. Juli und 18. Dezember 1911) von der Bodenoberfläche bis in eine Tiefe von 15 bis 20 cm, diese letztere in sehr hohem Grade mit anorganischen und organischen Nährstoffen für Choleravibrionen angereichert war.

Den Januar, April und Juni ausgenommen, ergab sich auch in bezug auf die Lufttemperatur in allen Monaten »ein Überschuß von 2 bis 4°, im Dezember sogar von 4 bis 5° über den langjährigen Durchschnitt. Das ganze Jahr 1911 zeichnete sich durch ungewöhnlich warmes Wetter bei gleichzeitiger Niederschlagsarmut« und Lufttrockenheit aus[1]).

Die folgenden Angaben über die Regenmengen lassen ersehen, daß zweifellos den ganzen ganz ausnahmsweise trockenen Juli hindurch bis zum 21. August ein aufsteigender kapillarer Flüssigkeitsstrom im Boden wirksam war, welcher der Bodenoberfläche große Mengen jener Nährstoffe aus der Tiefe des Bodens zuführte; denn die einzige etwas erheblichere Regenmenge im Juli,

1) Übersicht über die Witterungsverhältnisse in Bayern 1911 (Meteorolog. Zentralstation).

die am 14. Juli, nämlich von 14 mm, vermochte in der durch die vorausgegangene große Trockenheit des Winters und Frühjahrs ausgetrockneten, obersten Bodenschichte keine Abwärtsbewegung des Bodenwassers einzuleiten; sie trug im Gegenteil nur dazu bei, die kapillare Aufwärtsbewegung desselben zu unterstützen.

Ähnlich, wenn auch nicht ganz so günstig, waren die Verhältnisse in der ersten Hälfte des Dezember 1911.

Regenmengen vom 1. Juli bis 31. Dezember 1911.
(Nach den Berichten der Meteorologischen Zentralstation in München.)

	Juli	August	September	Oktober	November	Dezember
	mm	mm	mm	mm	mm	mm
1.	10,4	—	—	3,6	—	0,1
2.	0,5	—	—	3,8	—	—
3.	6,1	—	—	0,2	—	—
4.	—	2,9	—	—	—	2,0
5.	—	0,2	—	1,7	—	1,0
6.	—	0,5	—	0,7	2,5	—
7.	—	—	—	—	—	—
8.	—	—	—	0,3	—	—
9.	—	—	—	8,2	—	1,6
10.	—	—	—	10,2	1,8	—
11.	—	—	—	—	23,0	1,6
12.	—	—	—	—	—	12,4
13.	—	—	—	—	1,8	—
14.	14,0	3,6	—	0,4	0,4	0,5
15.	—	—	0,5	—	—	—
16.	—	—	8,2	—	—	7,3
17.	—	—	1,8	—	—	—
18.	—	—	—	—	—	—
19.	—	—	—	—	0,7	—
20.	—	—	0,2	—	—	1,3
21.	—	2,9	11,3	—	4,0	—
22.	—	6,4	11,8	—	—	4,7
23.	—	20,5	17,5	—	—	12,0
24.	—	5,4	—	2,4	0,2	1,1
25.	—	0,6	0,1	2,0	25,1	2,8
26.	—	10,2	—	0,5	1,2	1,9
27.	—	1,3	—	—	—	7,0
28.	—	—	10,9	13,0	—	1,9
29.	0,6	—	15,9	1,5	—	2,8
30.	—	12,0	—	1,1	—	0,5
31.	16,6	—	—	—	—	2,1
	31,6	83,1	78,3	49,6	60,7	64,6

Die folgende Tabelle läßt ersehen, daß in den Cholerajahren Münchens, 1854 und 1873, die Jahressumme der Regenmenge unter dem Mittel von 33 Jahren war. Im Jahre 1866, in welchem in einzelnen Kreisen Bayerns Cholera herrschte, blieb München cholerafrei, was v. Pettenkofer auf die hohe Regenmenge dieses Jahres zurückführt. Das Jahr 1911 hatte eine noch geringere Regenmenge als die beiden Cholerajahre Münchens 1854 und 1873.

Regenmengen in München in Millimetern[1]).

Monat	1911	1854	1873	Cholerafreies Jahr 1866	Mittel aus den Jahren 1848—1880
Januar . . .	23,2	26,8	6,8	30,5	37,56
Februar . . .	37,8	50,8	51,0	59,1	34,09
März	19,9	28,6	32,5	83,5	46,41
April	46,4	35,4	53,7	65,9	59,43
Mai	132,0	125,0	122,3	63,6	91,95
Juni	121,0	106,0	132,0	129,3	112,86
Juli	31,6	110,3	74,7	136,3	108,15
August . . .	83,1	116,6	171,7	127,7	106,75
September . .	78,3	20,1	65,9	77,8	63,48
Oktober . . .	49,6	56,2	45,8	3,4	57,85
November . .	60,7	47,4	32,5	71,1	49,02
Dezember . . .	64,6	62,5	11,8	52,3	37,07
	748,2	785,7	800,7	900,5	804,63

Die Verhältnisse für das Experiment wurden auch noch dadurch sehr günstig, vielleicht sogar etwas günstiger als unter natürlichen Verhältnissen gestaltet, daß wir den Boden von der Oberfläche bis in etwa 20 cm Tiefe entnahmen, so daß die bei stärkeren Niederschlägen von der Bodenoberfläche vorübergehend wieder in die genannte Tiefe zurückgeführten Nährstoffe mit im Experiment verwendet wurden. Da aber anderseits im Experiment manche Momente ungünstiger sind als unter natürlichen Verhältnissen, so darf man wohl sagen, daß in jenen Versuchen, bei denen der Boden im Experiment mit Wasser durch-

1) Beobachtungen der meteorolog. Stationen in Bayern von v. Bezold und Karl Lang. Bd. 4, S. 194.

tränkt wurde, im allgemeinen die gleichen Bedingungen gegeben waren wie in der Natur.

Es war daher auch mit Rücksicht auf die Beziehungen des Bodens zur Choleraverbreitung von Interesse festzustellen, welchen Einfluß die Passagekultur der Choleravibrionen gerade in diesem Boden auf die Wachstumsenergie und die Nitritproduktion äußert.

Bevor über diese Versuche berichtet wird, sind einige Angaben nötig über die

kolorimetrische Bestimmung der salpetrigen Säure durch alkoholische Indollösung.

Nach Dané[1]) lassen sich Nitrite im Wasser durch alkoholische Indollösung qualitativ nachweisen. Dané benutzt hiezu nach der Chemikerzeitung 34, S. 1057, eine Lösung von 0,02 g synthetischen Indols in 150 ccm 95 proz. Alkohol.

Ich habe die folgende Methode sowohl zum qualitativen Nachweis als zur quantitativen Bsstimmung der Nitrite in Wasser und wässerigen Kulturflüssigkeiten für geeignet befunden. Zu 100 ccm des zu untersuchenden Wassers oder z. B. zu 0,1 ccm einer 24 Stunden bei 36° C gezüchteten Choleravibrionen-Nitratbouillon + 100 ccm nitritfreien Leitungswassers setzt man 1 ccm Schwefelsäure (1 : 1), mischt gut und fügt 2 ccm der oben erwähnten alkoholischen Indollösung (0,02 g Indol auf 150 ccm 95 proz. Alkohol) hinzu. Bei einer Verdünnung der salpetrigen Säure von 1 : 10 000 000 tritt sofort deutliche Rosafärbung ein, und selbst noch bei der Verdünnung 1 : 50 000 000 erhält man nach zirka 10 Minuten eine gerade merkbare Rosafärbung.

Man kann somit noch 0,002 mg salpetrige Säure in 100 ccm Wasser sicher nachweisen. Mengen von 0,01 und 0,015 oder von 0,015 und 0,02 mg in 100 ccm Wasser sind sicher zu unterscheiden. Bei größeren Mengen als 0,06 mg pro 100 ccm Wasser wird die Unterscheidung solcher Differenzen unsicher, weshalb man die Kulturflüssigkeit immer so weit verdünnen muß, daß

1) Bull. Soc. Chim. de France (4) 9, S. 354 bis 355.

100 ccm der Verdünnung nur 0,002 bis 0,06 mg salpetrige Säure enthalten.

Versuche.

Es wurden drei Serien von Experimenten ausgeführt. Bei der ersten Serie kam unreiner Boden aus der Fallmereyerstraße sowie reiner Boden aus dem gleichen Stadtteil, die beide bei 2 Atm. Dampfdruck sterilisiert wurden, zur Anwendung. Der Boden wurde meist 30 cm hoch in Emmerich sche Röhren fest eingestampft und mit 0,5 proz. Natriumnitrat-Bouillon kapillar durchtränkt.

Bei der zweiten Serie wurde frisch entnommener, nicht sterilisierter Boden aus der Fallmereyerstraße mit Wasser durchtränkt verwendet, also unter natürlichen Verhältnissen gearbeitet.

Bei der dritten Serie wurde ein Boden aus der Plinganserstraße in Thalkirchen entnommen und in derselben Weise sterilisiert verwendet wie in der ersten Serie, aber mit Wasser kapillar durchtränkt.

Experimente mit dem am 28. Juli entnommenen verunreinigten Boden der Fallmereyerstraße Nr. 3, durchtränkt mit 0,5 proz. Nitratbouillon.

Experiment 1.

Eine Emmerich sche Röhre wird mit unreinem Boden aus Nr. 3 der Fallmereyerstraße und zum Vergleich eine zweite mit reinem sandigen Kiesboden von einem Bauplatz, der im gleichen Stadtbezirk gelegenen Nordendstraße aus 1 m Tiefe, je 30 cm hoch unter Rütteln und Einstampfen gefüllt, in 0,5 proz. Nitratbouillon gestellt und nach kapillarer Durchfeuchtung des Bodens auf dessen Oberfläche Dejektions-Choleravibrionen aus Graz am 27. XI. in einigen Tropfen verdünnter Bouillon aufgeimpft; beide Bodenröhren werden alsdann bei 36° C in den Brutschrank gestellt und zur Kontrolle eine Probe der mit der gleichen Kultur geeimpften 0,5 proz. Nitratbouillon (= »Nebenboden«).

Nach 3 Tagen, am 30. XI., wird wie folgt abgeimpft:

1. Vom unreinen Boden (Oberfläche) 2 Ösen in 40 ccm 0,5proz. Nitratbouillon.
2. Vom reinen Boden (Oberfläche) 2 Ösen in 40 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon.
3. Aus der Nitratbouillonkultur (Kontrolle »Nebenboden«) 10 Ösen in 40 ccm Nitratbouillon und zu letzterer noch einige Ösen sterilisierten reinen, sandigen Kieses gesetzt.

In diesen Proben wurden nun von 24 zu 24 Stunden die gebildeten Nitritmengen bestimmt und als salpetrige Säure berechnet, wobei sich folgende Resultate ergaben:

Milligramm NO_2H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon

untersucht am:	nach Stunden 24	48	96	120	144	168	216
	November 28.	29.	30.	Dezember 1.	2.	3.	4.
Unreiner Boden	11,0	20,0	27,0	—	—	—	—
Reiner Boden	7,0	10,0	20,0	20,0	22,0	27,0	—
»Nebenboden«	7,0	8,0	15,0	20,0	20,0	20,0	27,0

Zur fortlaufenden Kontrolle der Reinheit der Choleravibrionen auf den beiden Bodenröhren und in der Kontrollprobe (»Nebenboden«) werden von den damit geimpften Nitratbouillonproben am 30. XI., 2. XII., 4. und 7. XII. äerobe Gelatineplatten und je 1 anaerobe Traubenzuckeragarplatte hergestellt. Sämtliche Kulturen haben sich als rein erwiesen. Am 7. XII., also nach 10 Tagen, waren die Choleravibrionen auf dem unreinen Boden abgestorben.

Auf der 0,5 proz. Nitratbouillonprobe, die mit unreinem Boden geimpft wurde, nachdem sich die Choleravibrionen 3 Tage auf demselben befanden, war eine sehr üppige Oberflächenhaut von Vibrionen schon nach 24 Stunden gebildet, während sich auf der mit reinem Boden geimpften Nitratbouillon und auf der Kontrolle »Nebenboden« keine Spur von Hautbildung nach 24 Stunden der Kultur zeigte.

In Übereinstimmung hiermit steht auch die viel raschere Bildung von Nitrit durch die Vibrionen vom unreinen Boden gegenüber jener vom reinen Boden und der Kontrolle. Die Hautbildung auf der mit unreinem Boden beimpften Probe nahm bis zum 4. XII. an Dicke zu.

Während in der Kultur der Choleravibrionen, welche 3 Tage auf dem reinen Boden gewachsen waren, nahezu die gleichen Mengen salpetriger Säure gebildet wurden wie in jener der ebensolange in der Kontrollnitratbouillon gewachsenen, ging die Nitritproduktion in der Kultur jener Choleravibrionen, welche sich 3 Tage hindurch auf dem verunreinigten Boden vermehrt hatten, viel rascher vor sich, da bereits in 96 Stunden, oder 4 Tagen, die gesamte Nitratmenge der 0,5 proz. Nitratbouillon in Nitrit übergeführt war, eine Leistung, zu welcher in der Kultur der Choleravibrionen vom reinen Boden 168 Stunden oder 7 Tage und in der Kontrolle sogar 216 Stunden oder 9 Tage erforderlich waren. Die Ursache dieser beträchtlichen Erhöhung des Vermehrungsvermögens und Beschleunigung der Nitritproduktion der Choleravibrionen aus dem verunreinigten Boden kann somit nur in der chemischen Beschaffenheit desselben liegen, da die mechanischen und physikalischen Verhältnisse des Bodens, die auf dem reinen und unreinen Boden die gleichen sind, ohne Einfluß darauf waren. Wir dürfen erwarten, daß durch weitere Untersuchungen diejenigen chemischen Substanzen ermittelt werden, welche die besonderen Ursachen der Erhöhung des Vermehrungsvermögens und der Beschleunigung der Nitritproduktion auf dem unreinen Boden sind.

Es wäre sehr wichtig gewesen, bei allen Versuchen die Zahl der Vibrionenzellen von Tag zu Tag zu bestimmen, um feststellen zu können, ob auf dem Boden nur eine Erhöhung der Vermehrungsfähigkeit stattfindet, oder zu gleicher Zeit auch eine Erhöhung des Nitritbildungsvermögens der einzelnen Vibriozellen. Da aber auf den mit Bodenpassagekultur beimpften Nitratbouillonproben schon nach 24 Stunden ein Oberflächenhäutchen gebildet ist, das sich nicht in Einzelzellen zerteilen läßt, so müßte man durch Schüttelkulturen das Ziel zu erreichen suchen. Diese müssen jedoch sehr heftig geschüttelt werden, da bei leichtem Schütteln an der Röhrchenwandung stets dünne Häutchen gebildet werden. Es ist eine Aufgabe zukünftiger Untersuchungen, eine brauchbare Zählmethode auszuarbeiten, um unter Anwendung derselben diese Untersuchungen zu wiederholen und nicht nur die Nitritproduktion der Gesamtkultur, sondern auch das Nitritbildungsvermögen der einzelnen Vibriozellen quantitativ festzustellen[1]).

Experiment 2.

Dasselbe wurde am 9. XII. genau in derselben Weise ausgeführt wie der erste Versuch und das Ergebnis war, wie die folgende Tabelle zeigt, nahezu das gleiche.

Milligramm NO_2H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon

	nach Stunden				
	48	72	96	120	168
untersucht am:	Dezember				
	11.	12.	13.	14.	15.
Unreiner Boden	18,0	27,0	—	—	—
Reiner Boden	15,0	20,0	22,0	25,0	27,0
»Nebenboden«	12,0	—	22,0	22,0	27,0

In der 0,5 proz. Nitratbouillon, die mit Choleravibrionen, welche 3 Tage auf unreinem Boden gewachsen waren, beimpft worden war, zeigte sich schon nach 72 Stunden alles Nitrat zu Nitrit reduziert, während dies beim 1. Experiment scheinbar erst nach 96 Stunden der Fall war. Wäre aber bei letzterem der Nitritgehalt der Bouillon auch nach 72 Stunden bestimmt worden, dann hätte sich wohl das gleiche Resultat ergeben.

Auch bei diesem Versuch, welcher die aus dem 1. Experiment gezogenen Schlußfolgerungen in allem Detail bestätigt, wurde die Reinheit der Choleravibrionenkulturen auf den beiden Bodensäulen und in der Kontrollbouillon (»Nebenboden«) von Tag zu Tag durch aerobe und anaerobe Gelatine- und Traubenzuckeragar-Platte kontrolliert.

1) Wir mußten uns einstweilen darauf beschränken, aus dem Eintritt oder dem Ausbleiben einer Oberflächenhautbildung auf ein größeres oder geringeres Vermehrungsvermögen der Vibrionen zu schließen.

Versuche mit dem am 18. Dezember 1911 entnommenen Boden der Fallmereyerstraſse Nr. 3, durchtränkt mit 0,5 proz. Nitratbouillon.

Versuch 1.

Dieser Versuch wurde am 28. Februar ebenfalls genau so ausgeführt wie die vorangehend beschriebenen; jedoch war der unreine Boden im Hofe Fallmereyerstraße Nr. 3 nicht wie bei den vorigen Versuchen am 28. Juli, sondern erst am 18. Dezember von der Oberfläche bis in eine Tiefe von zirka 20 cm entnommen worden. Da es im ganzen Juli nur 31,6 mm regnete (während das Mittel aus 15 Jahren 112 mm beträgt), da ferner auch im August und Oktober die Regenmenge weit unter dem Mittel blieb und das ganze Jahr 1911 ein ausnehmend trockenes war, so darf angenommen werden, daß mit Ausnahme einiger Perioden, in denen, wie z. B. am 11. und 25. November, größere Regenmengen von 23 und 25 mm fielen, meistens ein aufsteigender kapillarer Wasserstrom im Boden vorhanden war, der nur in einigen regenreicheren Wochen in einen abwärts gerichteten verwandelt wurde.

Das war wohl der Grund, weshalb das folgende Experiment, ebenso wie die später beschriebenen, mit unsterilem und nur mit Wasser durchtränktem Boden ausgeführten, sehr günstige Resultate ergaben.

Milligramm NO_2H in 10 ccm 0,5 proz. Nitratbouillon

	nach Stunden			
	24	48	72	96
untersucht am:	März			
	1.	2.	3.	4.
Unreiner Boden . .	20,0	27,0	—	—
Reiner Boden . . .	12,0	18,0	24,0	27,0
»Nebenbodeen« . .	12,0	19,0	25,0	27,0

Die Nitratbouillonkulturen, welche mit den Vibrionen des unreinen Bodens beimpft waren, zeigten starke Hautbildung auf der Oberfläche, während dies bei der Kontrollbouillon und bei der mit Cholera vom reinen Boden infizierten Nitratbouillon nicht der Fall war.

Man erkennt aus den obigen Zahlen, daß die Nitritproduktion in Nitratbouillon nach der Passagekultur auf dem am 18. Dezember entnommenen Boden eine raschere war, als nach der Passagekultur auf der am 28. Juli im gleichen Hof ausgehobenen Bodenprobe; denn die Kultur der Vibrionen, welche sich 3 Tage auf dem letztgenannten Boden befanden, hatte alles Nitrat der Bouillon erst nach 72 resp. 96 Stunden in Nitrit verwandelt, während in dem Boden vom 18. Dezember, der vermutlich einen höheren Gehalt an organischen und anorganischen Nährstoffen hatte, der gleiche Effekt schon in 48 Stunden erzielt war. Allerdings ist zu bemerken, daß auch die Kontrollvibrionen (Dejektionscholerabazillen aus Graz) durch sehr häufige

Übertragungen in Nitratbouillon zwischen dem 27. XI., 9. XII. und 28. II. insofern verändert wurden, als sie am 27. XI. alles Nitrat in 9 Tagen, am 9. XII. in 8 Tagen, am 28. II. in 4 Tagen zu Nitrit reduzierten. Diese geringe Änderung vollzog sich aber hier bei sehr häufigen Übertragungen in sehr langen Zeiträumen, während die einmalige Übertragung auf den Boden in der kurzen Zeit von 3 Tagen einen unverhältnismäßig größeren Effekt hatte.

Versuch 2.

Dejektionscholeravibrionen aus Graz hatten am 28. XII. folgende Mengen von salpetriger Säure in 0,5 proz. Nitratbouillon gebildet:

Milligramm NO_2H in 10 ccm Nitratbouillon nach

24	48	72	96	144 Stunden
10,0	20,0	20,0	25,0	27,0

Diese Choleravibrionen wurden nun während 18, 20 und 31 Minuten einer Lösung von NO_2H 1 : 1000 ausgesetzt und dann in 0,5 proz. Nitratbouillon übertragen, in welcher nunmehr folgende Mengen von salpetriger Säure gebildet wurden:

Milligramm NO_2H in 10 ccm 0,5proz- Nitratbouillon

In NO_2H 1:1000	24	72	96	120	144	168	192 Stunden
18 Minuten . . .	5,0	11,0	18,0	18,0	22,0	22,0	27,0
20 Minuten . . .	3,0	12,0	19,0	19,0	22,0	22,0	27,0
31 Minuten . . .	3,0	10,0	15,0	18,0	23,0	25,0	27,0

Es war somit eine sehr beträchtliche Verlangsamung der Nitritproduktion erzielt worden.

Versuch 3.

Die so abgeschwächten Vibrionen wurden auf eine 30 cm hohe mit Nitratbouillon kapillar durchtränkte Bodensäule (Boden vom 18. Dezember) der Fallmereyerstraße übertragen und von dieser nach 3 tägigem Stehen im Brutschrank bei 36° C in 0,5 proz. Nitratbouillon abgeimpft; ebenso wurde von einer gleich lange im Thermostat gestandenen Kontrollbouillonkultur der gleichen abgeschwächten Vibrionen eine Übertragung in Nitratbouillon gemacht. Beide Bouillonproben wurden bei 36° C im Thermostat aufbewahrt und in je 24 Stunden Nitritbestimmungen ausgeführt. Das Resultat war folgendes:

Milligramm NO_2H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon nach

	24	48	72	96	120 Stunden
Unreiner Boden	15,0	23,0	27,0	—	—
Kontrolle . . .	10,0	15,0	22,0	25,0	27,0

Merkwürdig ist bei diesem Versuch, daß die durch salpetrige Säure 1 : 1000 herbeigeführte Abschwächung der Grazer Dejektionscholeravibrionen einzig und allein durch zweimalige Übertragung in 0,5 proz. Nitratbouillon ziemlich beträchtlich erhöht wurde; denn unmittelbar nach der Abschwächung reduzierten die Vibrionen die gesamte Nitratmenge in 192 Stunden, während sie nach der im Intervall von 3 Tagen ausgeführten zweimaligen Übertragung in 0,5 proz. Nitratbouillon die gleiche Wirkung schon in 144 Stunden entfalteten. Aber diese Beschleunigung der Nitritproduktion ist doch weit geringer als diejenige, welche durch den unreinen Boden bewirkt wurde.

Versuche mit nichtsterilisiertem, kapillar mit Wasser durchtränktem verunreinigtem Boden, am 18. Dezember in der Fallmereyerstraſse 3 entnommen.

Es war nun weiterhin zu untersuchen, ob auch die Übertragung der Choleravibrionen auf einen nichtsterilisierten, verunreinigten Boden unter natürlichen Bedingungen, also bei kapillarer Durchtränkung mit Wasser, imstande ist, das Vermehrungsvermögen zu erhöhen und eine Beschleunigung der Nitritproduktion herbeizuführen. Dieser Versuch hat mit Rücksicht auf die Lehre der Abhängigkeit der Choleraverbreitung von der Bodenbeschaffenheit ein ganz besonderes Interesse.

Versuch 1.

Am 22. Dezember 1911 wurde eine Emmerichsche Bodenröhre mit nichtsterilisiertem, lufttrockenem, verunreinigtem, aus der Fallmereyerstraße 3 am 18. Dezember 1911 entnommenem Boden 45 cm hoch unter tüchtigem Einstampfen gefüllt und mit Wasser kapillar durchtränkt. Um nun die in dieser Bodensäule enthaltenen löslichen, organischen und unorganischen Stoffe an die Bodenoberfläche zu führen, wurde an 4 Tagen je 3 Stunden lang Luft durch ein mit sterilisierter Watte gefülltes Glasrohr in langsamem Strom vermittels einer Wasserstrahlluftpumpe über die Bodenoberfläche geleitet. Am 1. Februar 1912 wurde die Bodenoberfläche mit einer sehr schwachen Choleravibrionensuspension in physiol. Kochsalzlösung infiziert und die Bodensäule in den Thermostat bei 36° C gestellt. Nach 24, 48 und 72 Stunden wurden Gelatineplatten, Dieudonné-Blutagarplatten und Peptonwasserproben mit dem Boden besät, um die Cholerabazillen rein zu züchten. Es gelang jedoch nur nach 24 und 48 Stunden Reinkulturen derselben zu erhalten, während die nach 72 Stunden hergestellten Gelatineplatten und Peptonwasserproben so viele Bodensaprophyten enthielten, daß infolge der dichten Lagerung der Kolonien auf den ersteren, eine isolierte Abimpfung der noch reichlich aber in sehr kleinen Kolonien vorhandenen Choleravibrionen nicht mehr möglich war. Es zeigte sich bei diesen Versuchen, daß stets fremde Kolonien bei der Abimpfung von den nach 72 Stunden hergestellten Platten mit übertragen worden waren und die Choleravibrionen gänzlich verdrängt hatten. Letzteres war auch bei dem nach 72 Stunden beimpften Pepton-

wasser der Fall. Demgegenüber war es Professor Emmerich[1]) und Gemünd gelungen, von nichtsterilisiertem, verunreinigtem und sehr keimreichem Boden noch nach 9 Tagen Choleravibrionen rein zu züchten; aber der von Emmerich und Gemünd benutzte Boden war mit ungemein viel größeren Mengen von Choleravibrionen infiziert worden als der von mir zum Experiment benutzte. Emmerich und Gemünd hatten die Absicht, die Choleravibrionen reichlich auf den Boden zu bringen, wie sie mit Reiswasserstühlen darauf deponiert werden, während ich nur sehr wenig Vibrionen auf dem Boden aussäte, um bei der voraussichtlichen reichlichen Vermehrung der ausgesäten Keime eine Änderung ihrer Eigenschaften, insbesondere der Nitritproduktion zu erzielen. Das Resultat des Versuches war, wie die folgende Tabelle zeigt, ein sehr günstiges.

Milligramm NO_2H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon nach

	24	48	72	96	120 Stunden
nach 24 Std. v. Boden rein gezüchtet .	10,0	17,0	20,0	25,0	27,0
» 48 » » » » » . .	19,0	27,0	—	—	—
Kontrolle	5,0	5,0	12,0	14,0	15,0

Die Choleravibrionen, welche nach 24 Stunden vom Boden in Nitratbouillon abgeimpft wurden, zeigten auf der letzteren nach 1 Tag eine schwache, die nach 48 Stunden abgeimpften eine ziemlich starke Hautbildung, während auf der Kontrolle nur ein äußerst zartes Häutchen erst nach 3 Tagen zu bemerken war. Schon in der Kultur der Choleravibrionen, welche nach 24 stündigem Aufenthalt des Bodens bei 36° C aus letzterem rein gezüchtet und in Nitratbouillon übertragen worden waren, war die Nitritproduktion gegenüber der Kontrolle um das Doppelte beschleunigt. In der Kultur der nach 48 stündiger Aufbewahrung des Bodens bei 36° C abgeimpften Choleravibrionen hatte die Nitritbildung eine so erhebliche Beschleunigung erfahren, wie dies Prof. Emmerich bei den zahlreichen von ihm ausgeführten Bodenversuchen selbst bei Bouillondurchtränkung des Bodens niemals in ähnlichem Grade beobachtet hat. Die Gesamtmenge der Nitrate war schon nach 48 Stunden zu Nitrit reduziert. Die Beschleunigung der Nitritbildung war also durch 48 stündige Einwirkung dieses Bodens auf die Vibrionen sogar noch bedeutender als bei allen unseren Versuchen, bei denen der Boden mit 0,5 proz. Nitratbouillon durchtränkt war, einen einzigen derartigen Versuch ausgenommen, bei dem die Vibrionen von mit Nitratbouillon durchtränktem Boden die Gesamtmenge der Nitrate auch schon nach 48 Stunden reduziert hatten. Bei diesem Versuch war aber ein Choleravibrio mit noch guter Nitritbildung verwendet worden, insofern alles Nitrat von der Kontrolle schon in 96 Stunden zu Nitrit reduziert war.

Bei unserem Versuche mit nichtsterilisiertem, mit Wasser durchtränktem Boden wurden dagegen Dejektionscholeravibrionen aus Graz verwendet,

1) Max Pettenkofers Bodenlehre der Cholera indica, experimentell begründet usw. München 1910. Verlag von J. F. Lehmann. S. 345.

welche infolge seltener Übertragung so langsam sehr geringe Mengen von Nitrit bildeten, wie wir es sonst nie beobachtet haben, da in 48 Stunden nur 5 und in 120 Stunden nur 15 mg Nitrit in 0,5 proz. Nitratbouillon erzeugt wurden. Um so beachtenswerter ist, daß die Kultur dieser Vibrionen nach deren zweitägigem Aufenthalt auf dem unter natürlichen Verhältnissen befindlichen Boden die Gesamtmenge der Nitrate in der Nitratbouillon schon innerhalb 48 Stunden zu Nitrit reduzierte. Aus diesem Versuch ergibt sich im Zusammenhalt mit den vorausgehend beschriebenen Experimenten, daß weder die Bouillon noch ein hoher Nitratgehalt des Bodens die Ursache dieser Kräftigung der Vibrionen und Beschleunigung der Nitritproduktion sind, sondern ganz bestimmte anorganische oder organische Substanzen, welche durch die Verunreinigung des Bodens, wahrscheinlich unter Mitwirkung des aufsteigenden kapillaren Flüssigkeitsstroms, in die oberste Bodenschicht gelangen.

Versuch 2.

Der folgende Versuch wurde mit dem gleichen Boden und unter denselben natürlichen Verhältnissen ausgeführt, mit dem einzigen nicht unwesentlichen Unterschied, daß der unreine Boden nicht in lufttrockenem, sondern in natürlich durchfeuchtetem Zustand in die Glasröhre eingestampft wurde. Dies hat den großen Nachteil, daß viele Bodenkapillaren durch das Zusammendrücken des feuchten Bodens zerstört werden, infolgedessen die kapillare Aufwärtsbewegung des Wassers im Boden sehr träge war. Dies war wohl auch der Hauptgrund, aus dem dieser Versuch ein etwas ungünstigeres Resultat ergab. Dasselbe war folgendes:

Milligramm NO_2H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon nach

	24	48	72	96	120 Stunden
nach 24 Std. v. Boden rein gezüchtet . .	5,0	15,0	22,0	24,0	27,0
» 48 » » » » » . .	11,0	15,0	27,0	—	—
Kontrolle	5.0	12,0	16,0	18,0	25,0

Versuch mit sterilisiertem, stark verunreinigtem Boden aus Thalkirchen, nur mit Wasser durchtränkt.

Dieser Boden wurde aus einem Hause der Plinganserstraße von der mit Pferdemist, Hausabwasser, Hühnerkot usw. stark verunreinigten Hofoberfläche, 6 m von einer Pferdemistgrube entfernt, in dem nassen Jahre 1907, und zwar am 25. November aus 0 bis 5 cm Tiefe entnommen. Beim Auspressen desselben in der hydraulischen Presse von Brinck & Hübner in Mannheim erhielt Prof. Emmerich aus ca. 4 l Boden 180 ccm Preßsaft, der wie Blutserum aussah. Trotzdem trat bei der Aussaat von Choleravibrionen in diesem keimfrei filtrierten Preßsaft keine Vermehrung, sondern eine langsame Abnahme der Keime ein. Es ergab sich:

Aus einer Öse (= 0,0077 ccm)

sofort nach Einsaat der Choleravib. in den Preßsaft 1,028,000 Cholera-Kol.
nach 8 Stunden . . . . . 882,000 » »
» 24 » . . . . . 756,000 » »

In diesem Boden waren somit keine günstigen Entwicklungsbedingungen für die Cholerabazillen, trotz der leicht ersichtlichen Verunreinigung desselben gegeben.

Eine Emmerichsche Röhre wird mit diesem sterilisierten verunreinigten Boden 30 cm hoch unter Einstampfen gefüllt, mit Wasser kapillar durchtränkt und auf die Oberfläche einige Tropfen einer physiol. Kochsalzaufschwemmung der Choleravibrionen aus Graz am 21. Dezember 1911 aufgeimpft. Nach 6 tägigem Stehen der Bodensäule im Thermostat bei 36° C werden die Vibrionen vom Boden in 0,5 proz. Nitratbouillon übertragen und gleichzeitig von der seit 6 Tagen neben dem Boden stehenden Bouillonkultur von Cholera ebenfalls in 0,5 proz. Nitratbouillon überimpft. Die Nitritbestimmungen ergaben:

Milligramm NO_2H in 10 ccm 0,5proz. Nitratbouillon nach

	24	48	72	96	144 Stunden
Steriler unreiner Boden	15,0	20,0	23,0	25,0	27,0
Kontrolle	10,0	20,0	20,0	25,0	27,0

Aus diesem Versuch und aus andern ähnlichen Untersuchungen, welche Prof. Dr. Emmerich ausgeführt hat, scheint hervorzugehen, daß die durch Aufschütten von Mistjauche und andern Abwässern bewirkte Verunreinigung der Bodenoberfläche, namentlich in nassen Zeiten nicht genügt, um auf derselben günstige Entwicklungsbedingungen für die Cholerabazillen zu schaffen. Es muß vielmehr noch eine längere trockene Zeit eintreten, in welcher nicht nur die genügende Quantität, sondern auch die geeignete Qualität von Nährstoffen aus der Tiefe des Bodens der Bodenoberfläche zugeführt werden.

Vorstehende Arbeit wurde auf Anregung und unter Leitung des Herrn Prof. Dr. R. Emmerich ausgeführt, dem ich für seine Unterstützung wärmstens danke.

Lebenslauf.

Ich, Frau Mnoucha Chwilewizky, geb. Kviat, bin den 22./-11. Januar 1887 im Gouvernement Grodno (Rußland) geboren.

Vom Jahre 1894 an habe ich das Grodnoer Madchengymnasium besucht und dasselbe im Juni 1903 absolviert.

Im Oktober 1906 bin ich in die Universität zu Besançon (Frankreich) aufgenommen worden, wo ich Naturwissenschaft studierte und 2 Semester verblieb.

In der Zeit vom Oktober 1907 bis April 1908 (3 Semester) studierte ich Medizin zu Montpellier.

Im Sommersemester 1910 habe ich meine Studien an der hiesigen medizinischen Fakultät fortgesetzt, wo ich bis jetzt geblieben bin.

Mnoucha Chwilewizky, geb. Kviat.